



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT (Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 0000054200	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/PEAA416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/14379	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 17.12.2003	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 20.12.2002
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N9/02		
Anmelder BASF AKTIENGESELLSCHAFT et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts. <input checked="" type="checkbox"/> Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT). Diese Anlagen umfassen insgesamt 7 Blätter.
3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten: I <input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des Bescheids II <input type="checkbox"/> Priorität III <input checked="" type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit IV <input type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung V <input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Regel 66.2 a)ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung VI <input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte Unterlagen VII <input type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung VIII <input type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 08.06.2004	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 21.03.2005
Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Lanzrein, M Tel. +49 89 2399-7358 

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):

Beschreibung, Seiten

1-48 in der ursprünglich eingereichten Fassung

das Sequenzprotokoll in der Beschreibung, Seiten

1-6 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Ansprüche, Nr.

1-26 eingegangen am 05.03.2005 mit Schreiben vom 04.03.2005

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um:

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen.)

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

☐ die gesamte internationale Anmeldung,

☒ Ansprüche Nr. 18-26

Begründung:

☐ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht *(genaue Angaben)*:

☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen *(machen Sie bitte nachstehend genaue Angaben)* oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte *(genaue Angaben)*:

☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.

☒ Für die obengenannten Ansprüche Nr. 18-26 wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.

2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:

☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung
Neuheit (N)

Ja: Ansprüche 1-17

Nein: Ansprüche

Erfinderische Tätigkeit (IS)

Ja: Ansprüche 1, 8-15, 17

Nein: Ansprüche 2-7, 16

Gewerbliche Anwendbarkeit (IA)

Ja: Ansprüche: 1-17

Nein: Ansprüche:

2. Unterlagen und Erklärungen:

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/14379

siehe Beiblatt

Zu Punkt III

Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

Die Ansprüche 18-26 wurden im internationalen Recherchenbericht von der Recherche ausgeschlossen. Für diese Ansprüche wird deshalb nach Regel 66.1 (e) PCT auch keine vorläufige Prüfung durchgeführt.

Zu Punkt V

Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Die vorliegende Anmeldung betrifft eine glyoxysomale Malat Dehydrogenase (gMDH).
Die Unterdrückung der gMDH in transgenen Pflanzen führte zu starken Wachstumsreduzierungen sowie chlorotischen Blättern und vereinzelt Nekrosen. Daraus folgt, daß gMDH essentiell ist und sich damit als Target für Herbizide eignet.
2. In diesem Bescheid werden folgende, im Recherchenbericht zitierte Dokumente (D) genannt; die Numerierung wird auch im weiteren Verfahren beibehalten:

D1: FASKE MARIA ET AL: "Transgenic tobacco plants expressing pea chloroplast Nmdh cDNA in sense and antisense orientation. Effects on NADP-malate dehydrogenase level, stability of transformants and plant growth" PLANT PHYSIOLOGY (ROCKVILLE), Bd. 115, Nr. 2, 1997, Seiten 705-715, XP0001181047 & ISSN: 0032-0889
D2: KIM DAE-JAE ET AL: "Expression of a single gene encoding microbody NAD-malate dehydrogenase during glyoxysome and peroxisome development in cucumber" PLANT MOLECULAR BIOLOGY, Bd. 26, Nr. 6, 1994, Seiten 1833-

1841, XP0009029821 & ISSN: 0167-4412

D3: GIETL C: "GLYOXYSOMAL MALATE DEHYDROGENASE FROM WATERMELON IS SYNTHESIZED WITH AN AMINO-TERMINAL TRANSIT PEPTIDE" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, Bd. 87, Nr. 15, 1990, Seiten 5773-5777, XP002278199 & ISSN: 0027-8424

D4: GOODMAN M M ET AL: "MALATE DEHYDROGENASE EC-1.1.1.37 VIABILITY OF CYTOSOLIC NULLS AND LETHALITY OF MITOCHONDRIAL NULLS IN MAIZE" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, Bd. 78, Nr. 3, 1981, Seiten 1783-1785, XP002278201 & ISSN: 0027-8424

3. Neuheit

Die Ansprüche 1-17 sind neu gegenüber den zitierten Dokumenten.

4. Erfinderische Tätigkeit

4.1 Die Ansprüche 2-7, 16 sind nicht erfinderisch gegenüber D2 und D3

D2 offenbart die Klonierung der gMDH aus der Gurke. Die Aminosäuresequenz ist 84.6% identisch zur SEQ ID NO 3 und die cDNA Sequenz 76.1% zur SEQ ID NO 2. Der Klon wurde erhalten durch das Screenen einer cDNA Bibliothek mit einer Sonde bestehend aus der Sequenz der Wassermelone (D3).

D3 offenbart die Klonierung der gMDH der Wassermelone. Die Aminosäuresequenz ist 85.2% identisch und die cDNA Sequenz 76% identisch zu den entsprechenden Sequenzen in der vorliegenden Anmeldung.

Ausgehend von den bekannten Sequenzen (D2, D3) war es möglich, ohne erfinderisches Zutun eine Sequenz aus einer weiteren Spezies (im vorliegenden Fall Tabak) zu isolieren. Deshalb sind die Ansprüche 4-9, 19, welche sich auf die

Nukleinsäuren und deren kodierte Polypeptide und die direkt daraus abeleiteten Ausführungen beziehen, nicht erfinderisch.

- 4.2 Die Ansprüche 1, 8-15, 17 können als erfinderisch im Sinne von Art. 33(3) PCT angesehen werden, denn es war weder bekannt noch ableitbar aus den zitierten Dokumenten, das die vorliegende gMDH gemäß SEQ ID NO 1-3 ein für Wachstum und Vitalität der Pflanze essentielles Gen ist und deshalb in einem Verfahren zur Identifizierung von Herbiziden verwendet werden kann.

Patentansprüche

1. Verwendung von Malat Dehydrogenase in einem Verfahren zur Identifizierung von Herbiziden, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei der Malat Dehydrogenase um eine glyoxysomalen Malat Dehydrogenase handelt, welche durch eine Nukleinsäuresequenz kodiert wird umfassend:
- a) eine Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO:1 dargestellten Nukleinsäuresequenz; oder
- b) eine Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO:2 dargestellten Nukleinsäuresequenz; oder
- c) eine Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung aus der in SEQ ID NO:3 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lässt; oder
- d) eine Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der Aminosäuresequenz eines funktionellen Äquivalents der SEQ ID NO:3, das eine Identität mit der SEQ ID NO:3 von mindestens 66% aufweist, ableiten lässt.
2. Pflanzliche Nukleinsäuresequenzen kodierend für eine glyoxysomalen Malat Dehydrogenase umfassend:
- a) eine Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO:1 dargestellten Nukleinsäuresequenz; oder
- a) eine Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO:2 dargestellten Nukleinsäuresequenz; oder
- b) eine Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung aus der in SEQ ID NO:3 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lässt; oder
- c) funktionelle Äquivalente der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO:2 mit einer Identität von mindestens 79% zu der SEQ ID NO:2; oder
- d) eine Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der Aminosäuresequenz eines funktionellen Äquivalents der SEQ ID NO:3, das eine Identität mit der SEQ ID NO:3 von mindestens 87% aufweist, ableiten lässt.

3. Polypeptid mit der biologischen Aktivität einer glyoxysomalen Malat Dehydrogenase als Target für Herbizide kodiert von einem Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 2.
- 5 4. Verfahren zur Detektion funktioneller Analoga der SEQ ID NO:2
- a) durch Herstellung einer Sonde gefolgt von anschließenden Durchsuchen einer genomischen oder cDNA Bank der entsprechenden Spezies; oder
- 10 b) einer Computer-Recherche nach analogen Sequenzen in elektronischen Datenbanken.
5. Expressionskassette umfassend
- 15 a) genetische Kontrollsequenzen in funktioneller Verknüpfung mit einer Nukleinsäuresequenz gemäß Anspruch 2; oder
- b) zusätzliche Funktionselemente; oder
- 20 c) eine Kombination aus a) und b).
6. Vektor umfassend eine Expressionskassette nach Anspruch 5.
- 25 7. Transgener Organismus umfassend mindestens eine Nukleinsäuresequenz kodierend für ein Polypeptid mit der biologischen Aktivität einer glyoxysomalen Malat Dehydrogenase gemäß Anspruch 2, eine Expressionskassette gemäß Anspruch 5 oder einen Vektor gemäß Anspruch 6 ausgewählt aus Bakterien, Hefen, Pilzen, tierischen oder pflanzlichen Zellen.
- 30 8. Verfahren zur Identifizierung von Substanzen mit herbizider Wirkung umfassend die folgenden Schritte:
- 35 i. Inkontaktbringen von Malat Dehydrogenase mit einer oder mehreren Testverbindungen unter Bedingungen, die die Bindung der Testverbindung(en) an das Nukleinsäuremolekül oder an die glyoxysomalen Malat Dehydrogenase erlauben; und
- ii. Nachweis, ob die Testverbindung an die Malat Dehydrogenase aus i) bindet; oder

- iii. Nachweis, ob die Testverbindung die enzymatische oder biologische Aktivität der Malat Dehydrogenase aus i) reduziert oder blockiert; oder
- iv. Nachweis, ob die Testverbindung die Transkription, Translation oder Expression der Malat Dehydrogenase aus i) reduziert oder blockiert, wobei die Malat Dehydrogenase durch eine Nukleinsäuresequenz kodiert wird, welche
- a) eine Nukleinsäuresequenz gemäß Anspruch 2; oder
- b) eine Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der Aminosäuresequenz eines funktionellen Äquivalents der SEQ ID NO:3, das eine Identität mit der SEQ ID NO:3 von mindestens 63% aufweist, ableiten läßt;
- umfasst.
9. Verfahren nach Anspruch 8 dadurch gekennzeichnet, dass die Malat Dehydrogenase eine glyoxysomale Malat Dehydrogenase ist und durch eine Nukleinsäuresequenz kodiert wird, welche
- a) eine Nukleinsäuresequenz gemäß Anspruch 2; oder
- b) eine Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der Aminosäuresequenz eines funktionellen Äquivalents der SEQ ID NO:3, das eine Identität mit der SEQ ID NO:3 von mindestens 66% aufweist, ableiten läßt;
- umfasst.
10. Verfahren nach Anspruch 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, dass eine Testverbindung selektiert wird, welche die enzymatische oder biologische Aktivität der glyoxysomalen Malat Dehydrogenase reduziert oder blockiert.
11. Verfahren nach Anspruch 8, 9 oder 10, dadurch gekennzeichnet, dass
- i. Malat Dehydrogenase entweder in einem transgenen Organismus exprimiert wird oder ein Organismus, der naturgemäß Malat Dehydrogenase enthält, kultiviert wird;
- ii. die Malat Dehydrogenase aus Schritt i) im Zellaufschluss des transgenen bzw. nicht transgenen Organismus, in partiell gereinigter Form oder in zur

Homogenität gereinigten Form mit einer Testverbindung in Kontakt gebracht wird; und

- 5 iii. eine Testverbindung selektiert wird, welche die enzymatische Aktivität der Malat Dehydrogenase aus Schritt a) reduziert oder blockiert.
12. Verfahren nach Anspruch 8, 9 oder 10 dadurch gekennzeichnet, dass es die folgende Schritte umfasst:
- 10 i. Herstellung eines transgenen Organismus nach Anspruch 7 oder eines transgenen Organismus enthaltend eine Nukleinsäuresequenz kodierend für eine Malat Dehydrogenase umfassend eine Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der Aminosäuresequenz eines funktionellen Äquivalents der SEQ ID
- 15 NO:3, das eine Identität mit der SEQ ID NO:3 von mindestens 63% ableiten lässt;
- wobei in dem transgenen Organismus Malat Dehydrogenase überexprimiert wird;
- 20 ii. Aufbringen einer Testsubstanz auf den transgenen Organismus nach i) und auf einen nicht-transgenen Organismus des gleichen Genotyps; und
- 25 iii. Bestimmen des Wachstums oder der Überlebensfähigkeit des transgenen und des nicht transgenen Organismus nach der Aufbringung der Testsubstanz; und
- 30 iv. Selektion von Testsubstanzen, die ein vermindertes Wachstum oder eine eingeschränkte Überlebensfähigkeit des nicht-transgenen Organismus bewirken verglichen mit dem Wachstum des transgenen Organismus.
13. Verfahren nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass es in einem pflanzlichen Organismus, einem Cyanobakterium oder einem Proteobakterium durchgeführt wird.
- 35 14. Verfahren zur Identifizierung von Substanzen mit wachstumsregulatorischer Wirkung, dadurch gekennzeichnet, dass es die folgende Schritte umfasst:
- 40 i. Herstellung einer transgenen Pflanze enthaltend eine Nukleinsäuresequenz kodierend für ein Polypeptid mit der biologischen Aktivität einer glyoxysomalen Malat Dehydrogenase umfassend

- 5 a) eine Nukleinsäuresequenz gemäß Anspruch 2; oder
- b) eine Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der Aminosäuresequenz eines funktionellen Äquivalents der SEQ ID NO:3, das eine Identität mit der SEQ ID NO:3 von mindestens 63% aufweist, ableiten läßt;
- wobei in dem transgenen Organismus Malat Dehydrogenase überexprimiert wird;
- 10 ii. Aufbringen einer Testsubstanz auf die transgene Pflanze nach i) und auf eine nicht-transgene Pflanze der gleichen Sorte;
- 15 iii. Bestimmen des Wachstums oder der Überlebensfähigkeit der transgenen und der nicht transgenen Pflanze nach dem Aufbringen der Testsubstanz; und
- 20 iv. Selektion von Testsubstanzen, die ein verändertes Wachstum der nicht-transgenen Pflanze bewirken verglichen mit dem Wachstum der transgenen Pflanze.
15. Verfahren nach einem der Ansprüche 8 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Identifizierung der Substanzen in einem High-Throughput-Screening durchgeführt wird.
- 25 16. Träger, der eines oder mehrere der Nukleinsäuremoleküle nach Anspruch 2, oder eine oder mehrere Expressionskassetten nach Anspruch 5, einen oder mehrere Vektoren nach Anspruch 6, einen oder mehrere Organismen nach Anspruch 7 oder eines oder mehrere (Poly)peptide nach Anspruch 3 aufweist.
- 30 17. Verfahren nach einem der Ansprüche 8 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Identifizierung der Substanzen in einem High-Throughput-Screening durchgeführt wird unter Verwendung eines Trägers gemäß Anspruch 16.
- 35 18. Verbindungen mit herbizider Wirkung identifiziert über eines der Verfahren nach einem der Ansprüche 8 bis 13, 15 und 17.
- 40 19. Verbindungen mit wachstumsregulatorischer Wirkung identifiziert über das Verfahren nach Anspruch 14, 15 oder 17.

20. Verfahren zur Herstellung einer agrochemischen Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet dass man
- 5 a) eine Verbindung mit herbizider Wirkung über eines der Verfahren nach den Ansprüchen 8 bis 13, 15 und 17 oder eine Verbindung mit wachstumsregulatorischer Wirkung nach Anspruch 14, 15 oder 17 identifiziert; und
- 10 b) diese Verbindung zusammen mit geeigneten Hilfsmitteln zu Pflanzenschutzmitteln mit herbizider oder wachstumsregulatorischer Wirkung formuliert.
21. Verfahren zur Bekämpfung von unerwünschtem Pflanzenwuchs und/oder zur Regulation des Wachstums von Pflanzen, dadurch gekennzeichnet, daß man
- 15 mindestens einen Inhibitor der Malat-Dehydrogenase gemäß Anspruch 18 oder 19 oder eine agrochemische Zusammensetzung enthaltend einen Inhibitor der Malat-Dehydrogenase gemäß Anspruch 18 oder 19 auf Pflanzen, deren Lebensraum und/oder auf Samen einwirken läßt.
22. Verwendung eines Inhibitor der Malat-Dehydrogenase gemäß Anspruch 18 oder
- 20 19 oder einer agrochemische Zusammensetzung enthaltend einen Inhibitor der Malat-Dehydrogenase gemäß Anspruch 18 oder 19 in einem Verfahren nach Anspruch 21.
23. Verfahren zur Erzeugung von Nukleinsäuresequenzen, welche für Malat Dehydrogenase kodieren, die durch Substanzen nach Anspruch 18 nicht inhibiert
- 25 wird, wobei die Nukleinsäuresequenz eine Nukleinsäuresequenz umfaßt, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der Aminosäuresequenz eines funktionellen Äquivalents der SEQ ID NO:3, das eine Identität mit der SEQ ID NO:3 von mindestens 63% aufweist, ableiten läßt;
- 30 dadurch gekennzeichnet, daß es folgende Prozessschritte umfaßt:
- a) Expression des von der Nukleinsäuresequenz gemäß i) kodierten Proteins in einem heterologen System oder in einem zellfreien System;
- 35 b) Randomisierte oder gerichtete Mutagenese des Proteins durch Modifikation der Nukleinsäure;
- c) Messung der Interaktion des veränderten Genprodukts mit dem Herbizid;
- 40

- d) Identifizierung von Derivaten des Proteins die eine geringere Interaktion aufweisen;
- e) Testung der biologischen Aktivität des Proteins nach Applikation des Herbizides; und
- f) Auswahl der Nukleinsäuresequenzen, die eine veränderte biologische Aktivität gegenüber dem Herbizid aufweisen.
24. Verfahren nach Anspruch 23; dadurch gekennzeichnet, daß die gemäß Anspruch 23 f) ausgewählten Sequenzen in einen Organismus eingebracht werden.
25. Verfahren zur Erzeugung transgener Pflanzen, die gegen Substanzen nach Anspruch 18 resistent sind, dadurch gekennzeichnet, daß in diesen Pflanzen eine Nukleinsäuresequenz codierend für eine Malat Dehydrogenase, welche
- a) eine Nukleinsäuresequenz gemäß Anspruch 2; oder
- b) ein funktionelles Äquivalente der Nukleinsäuresequenz der SEQ ID NO:3, das eine Identität mit der SEQ ID NO:3 von mindestens 63% aufweist; oder
- umfasst, überexprimiert wird.
26. Transgene Pflanze hergestellt nach einem Verfahren gemäß Anspruch 25.

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/EP2003/014379



PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 0000054200	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP2003/014379	International filing date (<i>day/month/year</i>) 17 December 2003 (17.12.2003)	Priority date (<i>day/month/year</i>) 20 December 2002 (20.12.2002)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 9/02, G01N 33/50, C12N 15/82		
Applicant BASF AKTIENGESELLSCHAFT		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 7 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 06 June 2004 (06.06.2004)	Date of completion of this report 21 March 2005 (21.03.2005)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International Application No.

PCT/EP2003/014379

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:
 pages 1-48, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the claims:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
 pages _____, filed with the demand
 pages 1-26, filed with the letter of 04 March 2005 (04.03.2005)
- ☐ the drawings:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the sequence listing part of the description:
 pages 1-6, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International Application No.

PCT/EP2003/014379

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application.

☒ claims Nos. 18-26

because:

☐ the said international application, or the said claims Nos. _____
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. _____
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported
by the description that no meaningful opinion could be formed.

☒ no international search report has been established for said claims Nos. 18-26

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.

☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International Application No.
PCT/EP 03/14379

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III.1

**Non-establishment of opinion with regard to novelty,
inventive step and industrial applicability**

Claims 18-26 were excluded from the search in the international search report. Pursuant to PCT Rule 66.1(e), a preliminary examination was therefore not carried out for these claims either.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International Application No.
PCT/EP 03/14379

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1, 8-15, 17	YES
	Claims	2-7, 16	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

1. The present application relates to a glyoxysomal malate dehydrogenase (gMDH).

The suppression of gMDH in transgenic plants results in marked reductions in growth and as well as in chlorotic leaves and isolated necroses.

Consequently, gMDH is essential and is therefore a suitable target for herbicides.

2. This report makes reference to the following documents (D) cited in the search report; the same numbering will be used throughout the procedure:

D1: FASKE MARIA ET AL: "Transgenic tobacco plants expressing pea chloroplast Nmdh cDNA in sense and antisense orientation. Effects on NADP-malate dehydrogenase level, stability of transformants and plant growth" PLANT PHYSIOLOGY (ROCKVILLE), Vol. 115, No. 2, 1997, pages 705-715, XP0001181047 & ISSN: 0032-0889

D2: KIM DAE-JAE ET AL: "Expression of a single gene encoding microbody NAD-malate dehydrogenase during glyoxysome and peroxisome development in cucumber" PLANT MOLECULAR BIOLOGY, Vol. 26, No. 6, 1994, pages 1833-1841, XP0009029821 & ISSN: 0167-4412

D3: GIETL C: "GLYOXYSOMAL MALATE DEHYDROGENASE FROM WATERMELON IS SYNTHESIZED WITH AN AMINO-TERMINAL TRANSIT PEPTIDE" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, Vol. 87, No. 15, 1990, pages 5773-5777, XP002278199 & ISSN: 0027-8424

D4: GOODMAN M M ET AL: "MALATE DEHYDROGENASE EC-1.1.1.37 VIABILITY OF CYTOSOLIC NULLS AND LETHALITY OF MITOCHONDRIAL NULLS IN MAIZE" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, Vol. 78, No. 3, 1981, pages 1783-1785, XP002278201 & ISSN: 0027-8424.

3. **Novelty**

Claims 1-17 are novel in relation to the cited documents.

4. **Inventive step**

4.1 Claims 2-7 and 16 are not inventive in relation to D2 and D3.

D2 discloses the cloning of gMDH from cucumber. The amino acid sequence is 84.6 % identical to SEQ ID NO 3 and the cDNA sequence is 76.1 % identical to SEQ ID NO 2. The clone was obtained by screening a cDNA library with a probe consisting of the sequence from watermelon (D3).

D3 discloses the cloning of gMDH from watermelon. The amino acid sequence is 85.2 % identical and the cDNA sequence 76 % identical to the corresponding sequences in the present application.

Proceeding from the known sequences (D2, D3), it was possible to isolate a sequence from a further species (in the present case tobacco) without exercising

inventive skill. Consequently, claims 4-9 and 19, which relate to the nucleic acids and their coded polypeptides and the types directly derivable therefrom, are not inventive.

- 4.2 Claims 1, 8-15 and 17 can be considered inventive within the meaning of PCT Article 33(3), because it was neither known nor derivable from the cited documents that the present gMDH according to SEQ ID NO 1-3 is an essential gene for plant growth and vitality and can therefore be used in a method for identifying herbicides.